

Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

UNTERSUCHUNGEN ZUR MORPHOLOGIE DER DURCH
VITAMIN C UND WASSERLÖSLICHES K-VITAMIN
ERZEUGTEN HEINZKÖRPER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Irmgard B E N S C H
aus Miedlar O/S

W ü r z b u r g 1957

Tag der mündl. Prüfung:

Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

UNTERSUCHUNGEN ZUR MORPHOLOGIE DER DURCH

VITAMIN C UND WASSERLÖSLICHES K-VITAMIN

ERZEUGTEN HEINZKÖRPER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Irmgard B E N S C H

aus Miedar O/S

W ü r z b u r g 1957

Referent : Prof. Dr. W. Künzer

Korreferent : Prof. Dr. J. Ströder

Tag der mündl. Prüfung:
21. Juli 1957.

Inhaltsverzeichnis :

=====

Seite

I. Einleitung : Geschichte, Ätiologie und Morphologie der Heinzkörper	1
II. Problemstellung : Toxische Wirkung von Vitamin C und wasserlöslichen Vitamin K - Analogen	6
III. Methodik : A. Verwendete Materialien	9
B. Bebrütung	9
C. Lichtoptische Darstellung der Heinz- körper	10
D. Elektronenoptische Untersuchungen	
1. Membranpräparate	10
2. Schnittpräparate	11
IV. Ergebnisse : 1. Lichtoptische Untersuchungen	12
2. Elektronenoptische Untersuchungen	13
V. Diskussion	22
VI. Zusammenfassung	25
VII. Literaturverzeichnis	28

I. Einleitung :

=====

Über Ätiologie und Morphologie der Heinzkörper finden sich in der Literatur mannigfaltige Hypothesen. Für eine bestimmte Heinzkörpererzeugende Noxe haben sie jedoch alle nur beschränkte Gültigkeit.

Hinsichtlich der Ätiologie der Heinzkörper gibt es nach WEBSTER fünf prinzipielle Möglichkeiten, die hier kurz angeführt seien :

1. Die protoplasmatische Theorie : Diese ist von HEINZ und EHRLICH zur Erklärung der Heinzkörperbildung herangezogen worden. Erster glaubt, dass die blauen Körperchen durch Teilnekrose des Erythrozytenprotoplasmas entstehen, letzter hält sie für Denaturierungsprodukte des Hämoglobins.
2. Die Kerntheorie : Hier wird versucht, die Heinzkörper wie die Jolly - Körperchen als Kernreste zu erklären. Übergänge zwischen diesen beiden Erythrozyteneinschlüssen behauptet SCHILLING gefunden zu haben.
3. Die Präexistenztheorie : Diese Theorie hält die Heinzkörper für vorgebildete Zellbestandteile. SCHWALBE und SOLLEY glauben, dass die Blutplättchen beim Blutgerinnungsvorgang aus vorgebildeten Strukturen in den Erythrozyten entstehen und durch Abschnürung ins Blutplasma gelangen. Durch Blutgifte, so nehmen sie an, kommt es zu einer beschleunigten Bildung dieser präexistenten Plättchen, die sie als Heinzkörper identifizierten. SCHILLING dagegen meint, dass die Heinz -

körper unter pathologischen Umständen aus dem im Erythrozyten vorhandenen, normalerweise unsichtbaren Kapselkörper hervorgehen. Durch Untersuchungen von DEUTSCH wie auch von GUTSTEIN und WALLBACH wird diese Theorie weitgehend gestützt, während DUSTIN sie verwirft.

4. Die reticulo-filamentäre Theorie : Aus der Basophilie der Substantia granulo-filamentosa der Reticulozyten und der Heinzkörper schloss man auf eine Verwandtschaft dieser beiden Erythrozyteneinschlüsse. Doch ist dem entgegen zu halten, dass Heinzkörper ganz vorwiegend nur in reifen Erythrozyten auftreten, wogegen die Reticulozyten davon frei bleiben, was man sich durch das Vorhandensein einer gewissen proteolytischen Aktivität in den unreifen Zellen erklärt (JUNG). Morphologisch können die Heinzkörper in typischen Fällen gut von den Reticulozyten unterschieden werden.
5. Die Denaturierungstheorie : Sie besagt, dass es sich bei den Heinzkörpern um Neubildungen handelt, die im Verlaufe einer irreversiblen Reaktion mit einem Blutgift im reifen roten Blutkörperchen entstehen. Nach HEUBNER und DUSTIN entwickeln sich diese Körperchen als Folge eines Oxydationsprozesses am roten Blutfarbstoff, während JUNG in der Denaturierung des Membraneiweisses den ersten Schritt zur Heinzkörperbildung sieht. Für die Ansicht von JUNG spricht auch, dass sich Heinzkörper in hamoglobinfreien Erythrozytenschatten erzeugen lassen (KÜNZER und SCHÜTZ). Allgemein muss angenommen werden, dass die Heinzkörper im peripheren Blut entstehen und nicht in den blutbildenden Organen. Dafür spricht u.a., dass im

Knochenmark vorwiegend unreife Vorstufen der Erythrozyten vorhanden sind. Ausserdem könnte als Hinweis dienen, dass man Heinzkörper in vitro erzeugen kann.

Schon MARCHAND (1879) und RIESS (1882) fanden nach Kalium - chloratvergiftung in den Erythrozyten bräunliche, glänzende, kugelige oder unregelmässig gestaltete Körnchen, von denen sie annahmen, dass sie aus Hämoglobin bestehen. Genau beschrieben wurden sie jedoch erstmalig durch den Erlanger Pharmakologen ROBERT HEINZ. Bei Untersuchungen mit Phenylhydrazin und dessen Derivaten entdeckte er diese eigenartigen Einschlüsse in den Erythrozyten. Er beschrieb sie als stark lichtbrechende Kugeln, die in Ein- und Mehrzahl in den roten Blutkörperchen liegen oder diesen knopfförmig aufsitzen oder aber mit den Erythrozyten nur durch einen mehr oder minder dicken Stiel zusammenhängen. Zu - weilen sah er die Körperchen völlig vom Erythrozyten losgetrennt von Protoplasma umgeben frei im Blutplasma umherschwimmen.

EHRLICH fand 1892 die gleichen morphologischen Veränderungen an roten Blutkörperchen von Mäusen. Nach seinen Untersuchungen rufen eine recht grosse Anzahl von Blutgiften diese Veränderungen hervor. Im Gegensatz dazu hatte HEINZ die Körperchen zunächst als für die Phenylhydrazinvergiftung spezifisch angesehen. Von EHRLICH stammt die Bezeichnung der "hämoglobinemischen Innen - körper".

Inzwischen ist eine Vielzahl von Substanzen sowohl organischer als auch anorganischer Natur bekannt geworden, die Heinzkörper

bilden. FERTMAN hat etwa sechzig derartige Substanzen in übersichtlicher Form in einer Monographie zusammengestellt. Im folgenden seien deshalb nur einige Heinzkörperbildner angeführt.

Nach chronischer Nitrobenzolvergiftung fanden EHLICH und LINDENTHAL im Blut eines Patienten Heinzkörperchen. An mit Mono- bzw. Dinitrobenzol vergifteten Katzen konnten BREDOW und JUNG Heinzkörper beobachten. Mit Nitroglycerin und Dinitroglycol erzeugte WILHELMI ebenfalls bei Katzen Heinzkörper. FERTMAN und DOAN berichteten 1945 über einen Fall von schwerer mit Heinzkörperbildung einhergehender Anämie bei einem 71 jährigen Patienten, der wegen Angina pectoris über ein Jahr Erythroltetranitrat eingenommen hatte. Dasselbe Medikament rief bei Katzen ein ähnliches Krankheitsbild hervor. Zu den Heinzkörperbildnern organischer Natur gehört auch das Anilin und seine Derivate (RODECK und WESTHAUS; FREIFELD, SCHILOWA und LUDWINOWSKY). Nach chronischer Antifebrinvergiftung und Coffeinsucht konnte SCHILLING Heinzkörper beobachten.

Von besonderem Interesse sind die iatrogen hervorgerufenen Heinzkörper. Nach Sulfapyridinbehandlung beschrieb MOESCHLIN Heinzkörperbildung. Auch andere Untersucher wie RICHARDSON, HARTMANN, DOERING stellten nach Sulfonamidgaben Heinzkörper fest. In besonders schweren Fällen können als Folge der Heinzkörperbildung Anämien auftreten, die unter Umständen zum Tode des Patienten führen (HARTMANN). Bei einem sieben Wochen alten Säugling, der mit Anastil - einem wasserlöslichen injizierbarem Guajakolpräparat - behandelt worden war, beobachtete WILLI einen hohen

Grad von Heinzkörperbildung.

Unter den anorganischen Substanzen sind die Chlorate als Heinzkörperbildner schon lange Zeit bekannt (MARCHAND; RIESS).

JUNG hat den Mechanismus der Heinzkörperentstehung durch Chlorate und Arsenwasserstoff genau untersucht. Eine besonders interessante Substanz ist das Natriumnitrit. Lange Zeit glaubte man, dass mit Natriumnitrit nur reversible Oxydationen in der roten Blutzelle hervorgerufen werden könnten : die Überführung von Oxyhämoglobin in Methämoglobin. Neuere Untersuchungen haben aber gezeigt, dass man an der Neugeborenenzelle - nicht aber an Erythrozyten von Erwachsenen - Heinzkörper in grosser Zahl erzeugen kann (KÜNZER und SCHÜTZ). Es liegt dies darin begründet, dass der Vorgang der Heinzkörperbildung ganz allgemein an Neugeborenenerythrozyten leichter vor sich geht als an Erwachsenenerythrozyten. Offenbar fördern besondere Eigenschaften der Erythrozyten von Neugeborenen die Heinzkörperbildung durch oxydative Noxen. Teils wird dies durch das Hämoglobin der Neugeborenenerythrozyten (fetales Hb), teils durch Eigenarten der Membran verursacht.

Was nun die Morphologie der Heinzkörper betrifft, so wandelt sich der Begriff des mit dem Namen Heinzkörper bezeichneten Formelementes im Laufe der geschichtlichen Entwicklung beträchtlich. Während von HEINZ ursprünglich die Heinzkörperbildung als spezifisch für die Phenylhydrazinvergiftung angesehen wurde, weiss man inzwischen, dass eine grosse Anzahl von oxydativen Giften Heinzkörper bilden kann.

Abgesehen von Kunstprodukten, die unter fehlerhaften Versuchsbedingungen entstehen, können andere Zell- und Blutelemente zur Verwechslung mit Heinzkörpern führen. So wurden früher die Substantia granulo-filamentosa der Reticulozyten, die Jolly - Körperchen nach Milzexstirpation, die basophile Tüpfelung durch Bleivergiftung, ja gelegentlich auch die Thrombozyten wegen lichtoptischer Schwierigkeiten bei der Differenzierung mit ihnen verwechselt. Die Substantia granulo-filamentosa kann in typischen Fällen durch Färbung mit Brillantkresylbau gut von Heinzkörpern unterschieden werden. Es gibt jedoch auch Übergangsformen der Reticulozyten, welche den Heinzkörperenthaltenden Erythrozyten weitgehend ähneln können.

Wenn auch nicht jedem Heinzkörperbildenden Agens eine besondere Heinzkörperform entspricht, so besteht doch eine gewisse Abhängigkeit zwischen Heinzkörperbildner und dem entstehenden Heinzkörperchen.

II. Problemstellung :

=====

Aus Arbeiten, vor allem englischer Autoren geht hervor, dass auch bestimmte V i t a m i n e gegen rote Blutkörperchen nicht indifferent sind und Heinzkörper erzeugen können. Diese Tatsache hat wegen ihrer eminenten Bedeutung für die Pädiatrie zu den vorliegenden Untersuchungen geführt.

Zuerst wurde von der Ascorbinsäure die Heinzkörperbildende Wirkung bekannt. GAJDOS und TIPREZ fanden 1945, dass in menschlichem

Citratblut, welches mit Ascorbinsäure versetzt worden war, nach zwei-bis dreistündiger Bebrütung neben Choleglobin eine ausgiebige Heinzkörperbildung stattfand. Einige Jahre später berichtete MERLINI über das Auftreten von Heinzkörpern nach Verabreichung einer Kombination von Vitamin C mit Alloxan oder Dialuronsäure in vivo. Interessanterweise trat bei gleichzeitiger Applikation von Vitamin C mit Alloxan kein renaler Diabetes auf. Die Heinzkörperbildung als Folge übermässiger Ascorbinsäureverabreichung erklärte man sich als mögliches Ergebnis vermehrter H_2O_2 -Bildung und Katalasehemmung (BRENNER und ALLISON).

Aufsehen haben nun insbesondere die Mitteilungen von ALLISON, BOUND und TELFER, MEYER und ANGUS erregt, dass wasserlösliche Vitamin K - Analoge als Blutgifte ernstlich in Erwägung gezogen werden müssen. Vor allem hat Synka-Vit grosse Beachtung gefunden, weil dieses Präparat klinisch routinemässig verwendet wird. Bis vor kurzem galt Synka-Vit als häufig angewandtes harmloses Medikament. Die Gefahren überhöhter Dosen von Synka-Vit Roche bestünden in Heinzkörperbildung, hämolytischer Anämie, Hyperbilirubinämie und eventuell nachfolgendem Kernikterus.

Zu diesem Problem wurde in einer Reihe von Arbeiten Stellung genommen. So sah ALLISON nach hoher Dosierung von Synka-Vit bei Frühgeborenen Hämolyse und Kernikterus auftreten. MOORE und SHARMAN konnten dies auch im Tierversuch an Ratten nachweisen, die an Vitamin E-Mangel litten. MEYER und ANGUS sowie BOUND und TELFER fanden bei Frühgeburten nach Synka-Vit Verabreichung ausgeprägte Hyperbilirubinämien mit nachfolgender Entwicklung eines

Kernikterus. WILLI beobachtete nach Synka-Vit-Gaben bei Frühgeborenen Heinzkörper und konnte diese auch im Tierversuch produzieren. An der hiesigen Kinderklinik wurden diese Behauptungen wegen der ausserordentlichen Wichtigkeit nachgeprüft. Nach Synka-Vit-Gaben wurde der Serumbilirubinspiegel wie auch die Heinzkörperbildung in vitro und in vivo untersucht. Man kam zu folgenden Ergebnissen:

Synka-Vit verändert den Serumbilirubinspiegel n i c h t . In Abhängigkeit von Konzentration und Bebrütungsdauer wirkt Synka-Vit in vitro als Heinzkörperbildner. Heinzkörperbildung in vivo ist bei Frühgeborenen und reifen Neugeborenen ausserordentlich selten. Die Autoren erblicken in der bisher geübten Synka-Vit-Medikation keine Gefahr (STRÖDER, KÜNZER und MÜLKE).

Offenbar kommt also dem Synka-Vit nicht die Gefährlichkeit zu, die von den englischen Autoren angenommen wurde. Trotzdem kann es als gesichert gelten, dass Synka-Vit und andere Vitamin K-Analoga Heinzkörperbildner sind. Es war deshalb von Interesse die Morphologie der Heinzkörperbildung nach wasserlöslichen Vitamin K-Analogen zu untersuchen. Die Untersuchungen wurden auf Vitamin C ausgedehnt, da bisher auch über die Morphologie dieser Heinzkörper nichts bekannt ist. Unsere Aufgabe war, die Heinzkörper licht- und elektronenoptisch darzustellen.

III. Methodik :

=====

A. Verwendete Materialien :

1. Die Untersuchungen wurden ausschliesslich mit Nabelschnurblut gemacht. Dieses wurde frisch der Nabelvene entnommen, mit 3,8 %iger Natrium citricum-Lösung im Verhältnis 1 : 10 versetzt und mit physiologischer Kochsalzlösung dreimal gewaschen.
2. Für die Versuche mit Vitamin C wurde handelsübliche 5 %ige Vitamin C - Lösung (Cebion Merck) verwendet. Diese Substanz ist chemisch als l-Ascorbinsäure eindeutig definiert. Bei unseren Vitamin K-Versuchen wurde handelsübliche 1 %ige Lösung von Synka-Vit Roche (Tetranatriumsalz des 2-Methyl-1,4-naphthohydrochinon-diphosphorsäureesters) verwendet. Diese Verbindung wurde als wasserlösliches Vitamin K-wirk-sames Menadiolderivat synthetisiert und steht den natürl-ichen K-Vitaminen, die als Menadionabkömmlinge bekannt sind, chemisch nahe. Zum Vergleich machten wir orientierende Untersuchungen mit Hemodal Hoechst (2-Methyl-1,4-naphthochinon-natriumbisulfit), Kavitrat Nordmark (acetyliertes Vitamin K₅-Derivat in 0,1 %iger Lösung. K₅= 2-Methyl-4-amino-1-naphthol-hydrochrid) und dem fettlöslichen Karanum Merck (2-Methyl-naphthohydrochinon-1,4-dibutytrat).

B. Bebrütung:

Die gewaschenen Nabelschnurerythrozyten wurden in silikonisierten Gefässen mit den Heinzkörperbildenden Substanzen zusammen-

gebracht und im Brutschrank bei 37°C 20 Stunden bebrütet. Die Endkonzentrationen der einzelnen Vitaminfraktionen in den Ansätzen betrugen für Vitamin C 0,5 % und für Synka-Vit 0,1 %.

C. Lichtoptische Darstellung der Heinzkörper :

Nach 20-stündiger Bebrütung wurden den Ansätzen kleine Proben entnommen, zu gleichen Teilen mit 1,0 %iger Nilblausulfatlösung versetzt und in einer feuchten Kammer 20 Minuten aufgestellt. Danach wurde eine kleine Menge der gefärbten Erythrozyten auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen abgedeckt und im Hellfeld bzw. mit dem Phasenkontrastverfahren auf Heinzkörperbildung kontrolliert. Vergleichsphotogramme zu den elektronenoptischen Aufnahmen wurden angefertigt und sind der Arbeit beigegeben.

D. Elektronenoptische Untersuchungen :

1. Membranpräparate :

Die Heinzkörperenthaltenden Erythrozytenansätze wurden zur Hämolyisierung dreimal mit Aqua bidest. zentrifugiert und die sedimentierten Stromata mit 1,0 %iger Osmiumsäurelösung (Merck) 30 bis 60 Minuten im Eisschrank fixiert. Je 1/2ml der abgesetzten Stromata wurde mit etwa 10 ml Aqua dest. verdünnt und ein Tropfen dieser Aufschwemmung auf einen mit einer Collodiumlackfolie überzogenen Spezialbronzeobjektträger (5 mm Durchmesser) gebracht und getrocknet. Zur Erhöhung des Kontrastes wurde das Präparat mit Palladium im Vakuum schräg bedampft. Danach erfolgte die Untersuchung

mit dem Elektronenmikroskop AEG Zeiss EM 8 und die Anfertigung der Photogramme.

2. Schnittpräparate:

Nach oben beschriebener Osmiumfixation, jedoch ohne vorherige Hämolyisierung, wurden die Erythrozytenansätze mit Alkohol stufenweise entwässert - 12 Stunden mit 70 %igem Alkohol, 2 Stunden mit 90 %igem und 1 Stunde mit absolutem Alkohol -. Danach wurde der Erythrozytenbrei in eine zu gleichen Teilen aus absolutem Alkohol und flüssigem Plast (neun Teile Butyl-methacrylat, 1 Teil Methyl-methacrylat der Firma Röhm und Haas, Darmstadt) bestehende Lösung übertragen und nach 60 Minuten für drei Stunden in reinen flüssigen Plast gebracht. An - schliessend erfolgte die Einbettung des Erythrozytenbreies in handelsübliche Gelatine kapseln, die mit festem Plast (= mit 2,4 Dichlorbenzoyl-peroxyd als Katalysator polymerisierter flüssiger Plast) aufgefüllt wurden. Die Kapseln wurden nun an Tesafilmstreifen im Brutschrank bei 48 ° C aufgehängt bis sich eine harte schnittfähige Masse gebildet hatte (etwa 1 1/2 bis 2 Tage).

Vom erhärteten Präparat wurden die Gelatine kapseln nach Auf - weichen in Wasser abgezogen, der die Erythrozyten enthaltende Teil des Blockes zu einer Pyramide zugespitzt und mit dem Ultramikrotom Typ LKB 3314, Sjöstrand, mit einem Thermalvor - schub von 250 bis 350 A (= 0,025 bis 0,035 ^o) geschnitten. Die in eine 20 %ige Alkohollösung fallenden und sich dort entfaltenden Schnitte wurden auf Kupfernetzobjektträgern von 2 mm Durchmesser ("Athene" Grids Typ 200), die mit einer

Formvarfolie überzogen waren, aufgefangen, getrocknet und elektronenoptisch untersucht.

IV. Ergebnisse :

=====

1. Lichtoptische Untersuchungen :

Zunächst machten wir die üblichen lichtoptischen Untersuchungen. Wir fanden Heinzkörper sowohl in den mit Cebion als auch mit Synka-Vit behandelten Erythrozyten. Die nachfolgenden lichtoptischen Aufnahmen, welche im Hellfeld bzw. mit Phasenkontrast aufgenommen wurden, sind typische Beispiele dafür.

(Abb. 1 und 2)



Abb. 1 : Heinzkörper nach Vitamin C-Einwirkung.

Abb. 2 : Heinzkörper nach Synka-Vit-Einwirkung.

Es zeigt sich, dass bei der angegebenen Konzentration und Bebrütungsdauer in allen Fällen nahezu jeder Erythrozyt Heinzkörper enthält. Über die genaue Lage und Morphologie dieser Heinzkörper ist auf Grund der lichtoptischen Präparate allein keine Aussage möglich.

2. Elektronenoptische Untersuchungen :

Nachdem lichtoptisch am Vorhandensein von Heinzkörpern kein Zweifel bestand, wurden von denselben Ansätzen Membranpräparate angefertigt. Abbildung 3 bis 6 zeigen die durch Cebion und Synka-Vit entstandenen Gebilde.

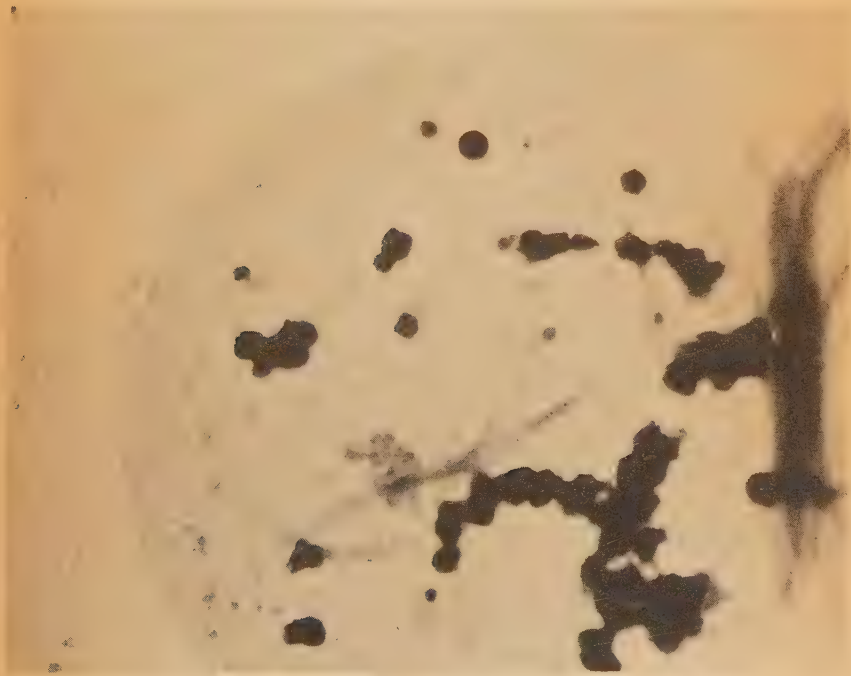


Abb. 3 : Vergr. 1 : 15 000



Abb. 4 u. 5
Vergr. 1:15000



Abb. 6 : Vergr. 1 : 15 000

In den hellen rundlichen Erythrozytenschatten mit streifen- und bogenförmigen Membranfalten finden sich zahlreiche rundliche bis ovale oder polygonale Heinzkörper, die über die ganze Zelle verstreut liegen. Sie erscheinen scharf begrenzt und optisch dicht, was wahrscheinlich zumindest zum Teil auf die Palladiumbedampfung zurückzuführen ist.

Trotz der geschilderten Gemeinsamkeiten bestehen auch wesentliche Unterschiede zwischen den Heinzkörpern in den Cebion und Synka-Vit-Präparaten. Im Cebion-Präparat sind die Heinzkörper deutlich kleiner, bizarrer und liegen nur selten vereinzelt, meistens jedoch in Haufen oder Ketten aneinander -

gelagert. Demgegenüber zeigen die Synka-Vit-Präparate bedeutend grössere, vielfach polygonale und mehr vereinzelt liegende Heinzkörper.

Ausserdem ist noch bemerkenswert, dass die meisten mit Synka-Vit behandelten Erythrozyten bläschenförmige Ausstülpungen haben, an deren Basis - aber noch im Erythrozyten - ein grösserer Heinzkörper sitzt.

Zur genaueren Lokalisation der Heinzkörper fertigten wir mit dem Ultramikrotom Schnitte an. Als typische Beispiele für die so erhaltenen Aufnahmen dienen die Abbildungen 7 bis 10.

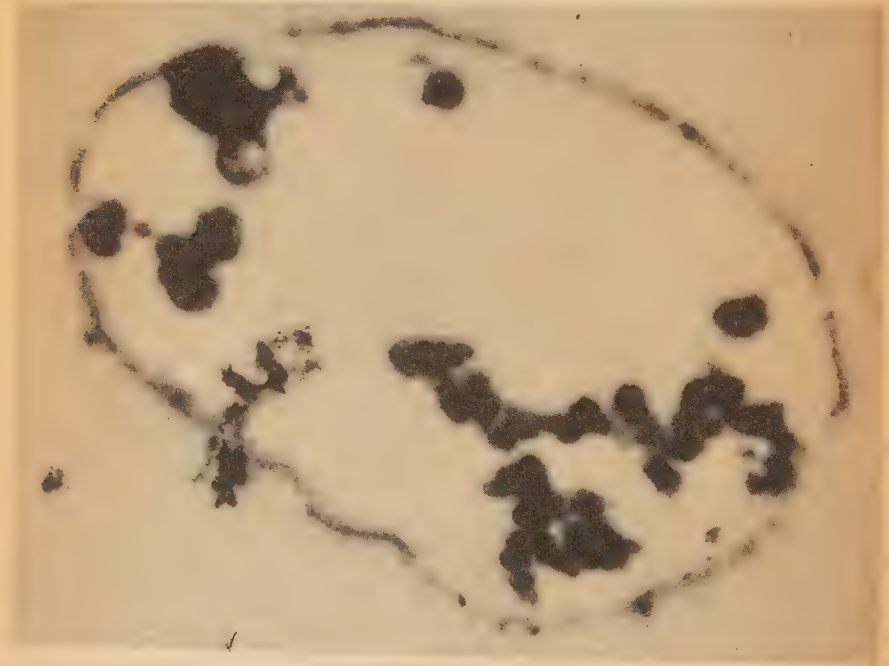


Abb. 7 : Vitamin C-Präparat, Vergr. 1 : 19 000



Abb. 8 : Vitamin C-Präparat, Vergr. 1 : 12 000
Abb. 9 : Synka-Vit-Präparat, Vergr. 1 : 19 000

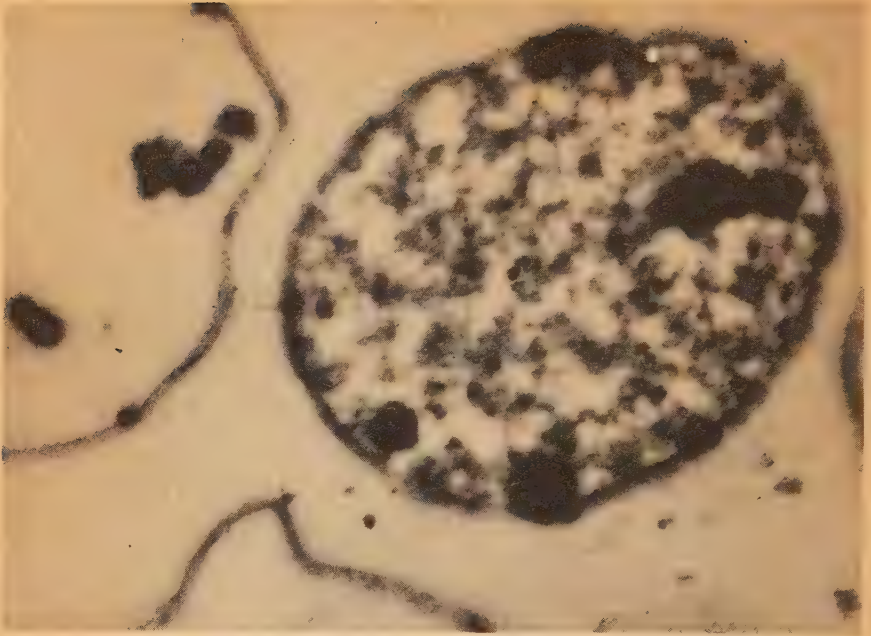


Abb. 10 : Synka-Vit-Präparat, Vergr. 1 : 14 500

Alle Cebion - und Synka-Vit-Präparate zeigen, dass die Heinzkörper auch ohne Palladiumbedampfung sehr kontrastreich sind, intrazellulär und vorwiegend membrannahe liegen. In anderer Hinsicht unterscheiden sich die Präparate allerdings deutlich voneinander. In den Vitamin C-Präparaten sind die Heinzkörper kleiner, zahlreicher und liegen in Haufen und Ketten beisammen. Die Synka-Vit Präparate enthalten dagegen erheblich grössere, wesentlich weniger und mehr einzeln liegende Heinzkörper.

In den Abbildungen 11 bis 13 werden in nicht hämolysierten Erythrozyten Zelleinschlüsse dargestellt, die wir nicht eindeutig identifizieren können. Vermutlich handelt es sich dabei um abartige Heinzkörper mit deutlicher Eigenstruktur in Form feinsten Körnelung. Teilweise sind diese Heinzkörper vakuolenartig ausgehöhlt.

Vergleichsweise durchgeführte Versuche mit dem fettlöslichen Karanum Merck und den wasserlöslichen Präparaten Hemodal Hoechst und Kavitrat Nordmark zeigten ebenfalls eine sehr ausgeprägte Heinzkörperbildung. Wir stellten nur Membranpräparate her. Zur Gewinnung eines Eindrucks geben wir die Abbildungen 14 bis 16 wieder.

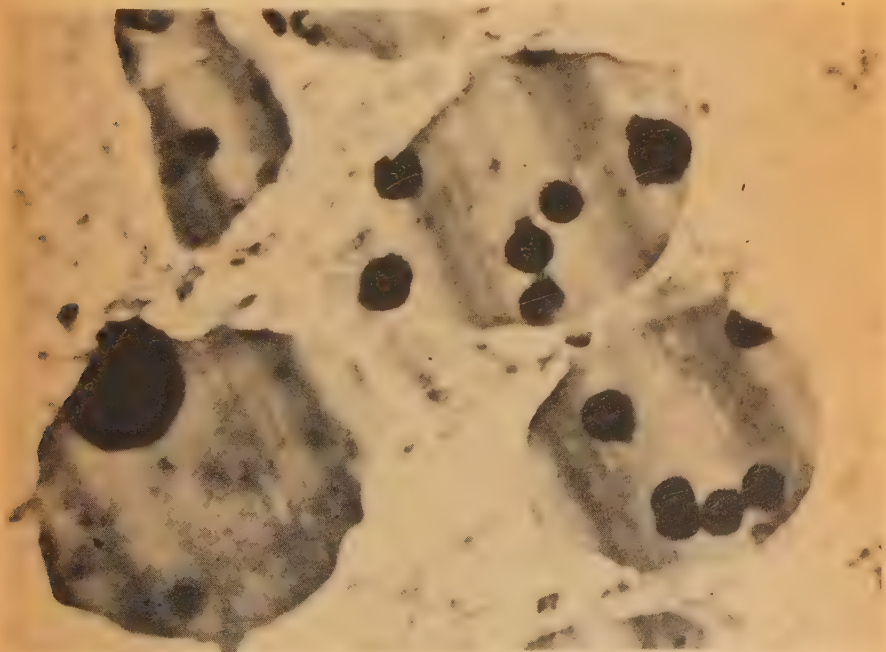
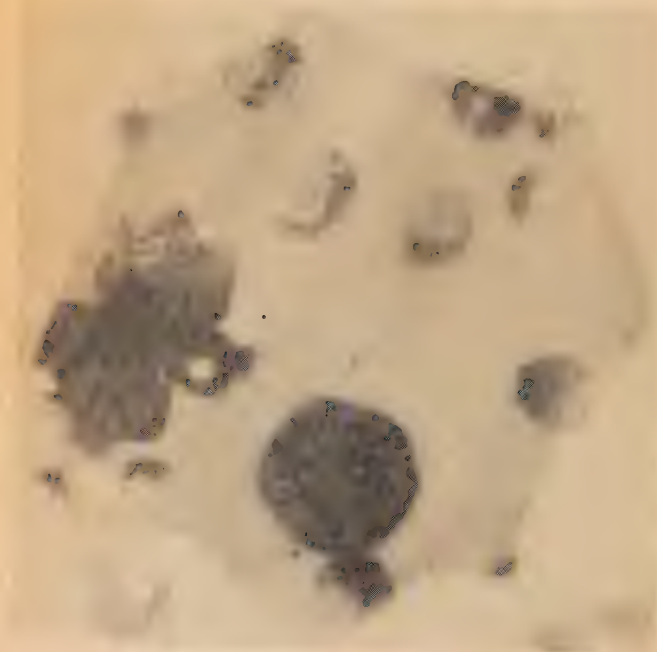


Abb. 11 : Synka-Vit Präparat, Vergr. 12 000



Abb. 12.
Vergr. 1:12 000

Abb. 13.
Vergr. 1:21 500



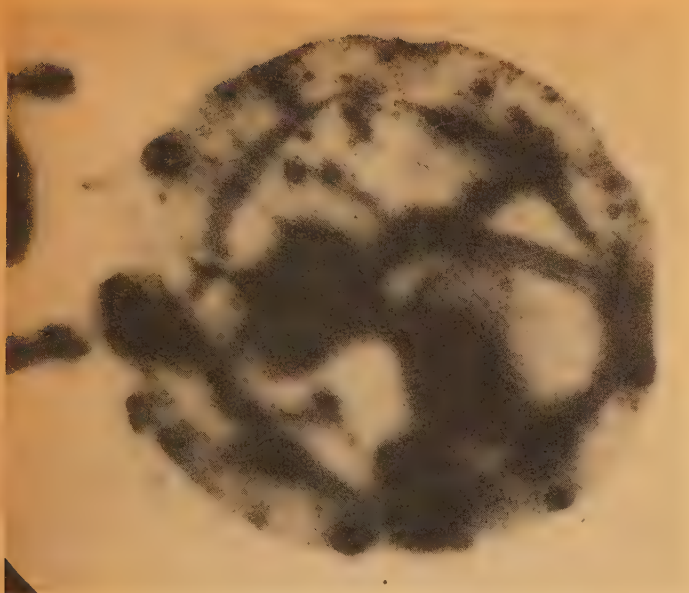


Abb. 14
Karanum-Präp.
Vergr. 1:12500



Abb. 15
Hemodal-Präp.
Vergr. 1:15000

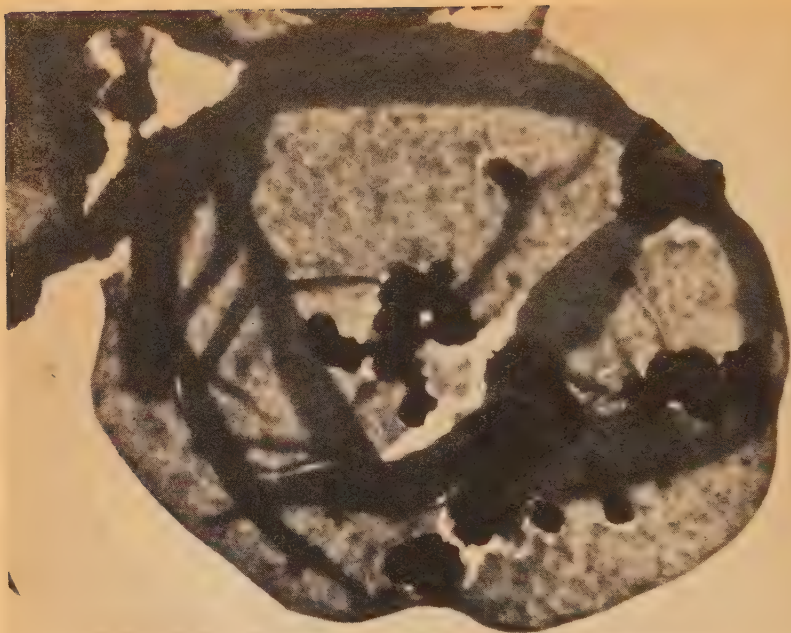


Abb. 16 : Kavitrat-Präparat, Vergr.1:15 000

V. Diskussion :
=====

Dass Vitamin C Heinzkörperbildung verursacht, ist bereits seit einigen Jahren bekannt. GAJDOS und TIPREZ konnten mit reiner Ascorbinsäure in vitro Heinzkörperbildung im menschlichen Erythrozyten hervorrufen. Für die Klinik hat diese Beobachtung bisher keine Bedeutung gewonnen. Es werden hohe und sogar sehr hohe Vitamin C-Dosen bei zahlreichen Krankheitszuständen verabreicht, ohne dass irgendwelche Bedenken bestehen (KALT). Offenbar ist dies nicht berechtigt. Entsprechende Untersuchungen haben gezeigt,

dass in vitro noch eine Ascorbinsäurekonzentration von 10mg/100ml zu deutlicher Heinzkörperbildung führt (STRÖDER, KÜNZER u.MÜLKE). Es ist demnach angezeigt, Vitamin C nur in indizierten Fällen und in nicht zu hoher Dosierung zu geben.

Grosses Aufsehen haben die Mitteilungen englischer Autoren erregt, nach denen Synka-Vit beim Frühgeborenen Anämie und Hyperbilirubinämie mit nachfolgendem Kernikterus verursachen kann (ALLISON; BOUND und TELFER; MEYER und ANGUS). Diese Behauptung ist zunächst von mehreren Autoren bestätigt und darüber hinaus eine Heinzkörperbildung festgestellt worden (WILLI; NITSCH). Inzwischen hat sich zwar erwiesen, dass Synka-Vit in normaler Dosierung auch für Frühgeborene unschädlich ist (STRÖDER, KÜNZER u.MÜLKE), jedoch besteht an der Tatsache, dass Synka-Vit ein Heinzkörperbildner ist, kein Zweifel. Allerdings erfolgt in vitro die Heinzkörperbildung in deutlicher Abhängigkeit von Konzentration und Bebrütungsdauer (STRÖDER, KÜNZER u.MÜLKE).

Auch unsere Untersuchungen zeigen, dass sowohl Vitamin C (Cebion Merck) als auch wasserlösliche Vitamin K-Analoge (Synka-Vit Roche) in vitro Heinzkörperbildung verursachen. Bei der von uns gewählten Konzentration und Bebrütungsdauer war in jedem Präparat und fast jedem Erythrozyten eine ausgeprägte Heinzkörperbildung nachweisbar. Interessanterweise unterscheiden sich die Heinzkörperchen morphologisch voneinander. Die nach Einwirkung von Cebion gefundenen Heinzkörper sind deutlich

kleiner, zahlreicher und liegen in Haufen oder Ketten beisammen (Abb. 3, 4, 7 u. 8).

Die nach Einwirkung von Synka - Vitamin entstandenen Präparate enthalten dagegen erheblich grössere, wesentlich weniger und mehr einzeln liegende Heinzkörper (Abb. 5, 6, 9, 10).

Damit erhebt sich die Frage, ob nicht überhaupt jedem Blutgift eine bestimmte Form der Heinzkörper zuzuordnen ist. Sieht man die in der Literatur wiedergegebenen Abbildungen ein, so könnte dies mit aller Vorsicht angenommen werden. Man findet von größten Zelleinschlüssen, die bis zu einem Drittel des Erythrozytenvolumens einnehmen (Dinitrobenzolvergiftung), bis zu Hunderten von kleinen Granula (Phenylhydrazinvergiftung) eine grosse Skala von morphologischen Möglichkeiten (JUNG ; WOLPERS). Natürlich müssten, ehe endgültige Feststellungen gemacht werden können, speziell hierauf gerichtete Untersuchungen angestellt werden und dabei auch die Abhängigkeit der Morphe der Heinzkörper von der Konzentration des Blutgiftes und der Bebrütungsdauer geprüft werden.

Leider wurden den bis jetzt veröffentlichten Arbeiten über Heinzkörperbildung nach Vitamin C und wasserlöslichen Vitamin K-Analogen keine elektronenoptischen Aufnahmen beigelegt, so dass Vergleiche unserer Bilder mit anderen nicht möglich sind.

In einigen unserer Synka-Vit-Präparate fielen uns Heinzkörper auf, die eine eigentümliche Körnelung zeigten und ausserdem ein vakuo - lenartiges Gebilde enthielten. Es muss zunächst offen bleiben, ob es sich hierbei um ein Kunstprodukt (Kristall ?) oder um eine wirkliche Eigenstruktur der Heinzkörper handelt(Abb. 11 bis 13).

Orientierende Versuche haben wir mit Hemodal Hoechst, Kavitrat Nordmark und Karanum Merck vorgenommen. Auch diese Präparate erwiesen sich als ausgeprägte Heinzkörperbildner (Abb. 14 bis 16). Aus der Literatur ist bekannt geworden, dass auch Kappadione Lilly, Hykinon Abbot und Vitamin K Maggioni in vitro Heinzkörperbildner sind (WILLI). Es ist also die Heinzkörpererzeugende Fähigkeit bei den Vitamin K-wirksamen Präparaten keineswegs auf das Synka-Vit beschränkt. Interessant erscheint in diesem Zusammenhang, dass das natürliche Vitamin K (Konakion) keine Heinzkörperbildung hervorruft (KOLLER).

VI. Zusammenfassung :

=====

In der vorliegenden Arbeit wird nach einem kurzen historischen Überblick über die Entdeckung, Entstehungsart und Morphologie der Heinzkörper, sowie der Heinzkörperbildenden Agentien, über Versuche berichtet, in Nabelschnurblut Heinzkörper durch Vitamin C (Cebion Merck) und wasserlösliches Vitamin K (Synka-Vit) zu erzeugen. Die Heinzkörper wurden licht- und elektronenoptisch dargestellt, wobei Membranpräparate und Schnittpräparate mit dem

Ultramikrotom angefertigt wurden. In den Konzentrationen von 0,5 % für Cebion und 0,1 % für Synka-Vit gelang es bei einer Bebrütungsdauer von 20 Stunden in a l l e n Präparaten und f a s t j e d e m Erythrozyten eine ausgiebige Heinzkörperbildung zu erzeugen. Die Heinzkörper nach Einwirkung von V i t a m i n C sind deutlich k l e i n e r , z a h l r e i c h e r und liegen in H a u f e n und K e t t e n zusammen. Die nach Einwirkung von S y n k a - V i t entstandenen Präparate enthalten dagegen erheblich g r ö s s e r e , wesentlich w e n i g e r und mehr einzeln liegende Heinzkörper. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Karanum Merck, Hemodal Hoechst und Kavitrat Nordmark ebenfalls Heinzkörperbildende Substanzen sind.

Herrn Professor Dr. J. Ströder, Direktor der Universitäts -
Kinderklinik, danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Professor Dr. W. Künzer für die freundliche Überlassung
des Themas und die grosszügige Unterstützung an dieser Stelle
danken zu dürfen, ist mir ehrenvolle Pflicht.

Herrn Professor Dr. C. Sonnenschein sage ich Dank für die
Genehmigung im elektronenmikroskopischen Labor des Hygiene-
Institutes arbeiten zu können.

Ferner danke ich Herrn Dr. G. Pohlmann und Fräulein H. Sonnen-
schein für die Anleitung bei der Herstellung der Präparate
und die Anfertigung der elektronenoptischen Aufnahmen.

VII. Literaturverzeichnis :

=====

1. ALLISON, A.C. : Lancet 1, 669 (1955)
2. ALLISON, A.C., MOORE, T. u. SHARMAN, I.M. : Brit. Journal of Haematology II, 197 - 204 (1956)
3. BOUND, J.P. u. TELFER, T.P. : Lancet 1, 720 - 722 (1956)
4. BRAUNSTEINER, H., PASCHEK, F. u. REIMER, E.E. : Wien.klin. Wchnschr. 62, 244 (1950)
5. BREDOW, v. M. u. JUNG, F. : Arch.exp.Path.u.Pharmakol. 200, 305 - 323 (1942/43)
6. BRENNER, S. u. ALLISON, A.C. : Experientia 9 (10), 381 (1953)
zit. nach Fertman, M.H.u.M.B. siehe 12
7. DEUTSCH, J. : Ztschr. klin. Med. 108, 747 - 751 (1928)
8. DOERING, L. : Med. Klin. 37, 354 - 356 (1941)
9. DUSTIN, P. : Rev. belg. sc. méd. 14, 48 - 63 (1942)
zit. nach Webster siehe
10. EHLICH, K. u. LINDENTHAL, O. : Ztschr. klin.Med. 30, 427 - 446 (1896)
11. EHRLICH, P. : Verhandl. Congr. inn. Med. 11, 33 - 64 (1892)
12. FERTMAN, M.H. u. M.B. : Medicine 34, 131 - 186 (1955)
13. FERTMAN, M.H. u. DOAN, C.A. : Proc.Central Soc.Clin.Res. 18, 66 - 67 (1945) zit. nach Fertman M.H.u.M.B. siehe 12
14. FREIFELD, F., SCHILOWA, A., LUDWINOWSKY, R. : Folia haemat. 56, 333 (1937)
15. GAJDOS, A. u. TIPREZ, G. : Compt. rend. Soc. biol. 139, 545 (1945) .
16. GUTSTEIN, M. u. WALLBACH, G. : Virch.Arch.path.Anat. 267, 144 - 154 (1928)

17. HARTMANN, C. : Kinderärztl. Praxis 18, 332 (1950) zit. nach
Fertman M.H. u. M.B. siehe 12
18. HEINZ, R. : Virch.Arch.path.Anat. 122, 112 - 116 (1890)
19. HEUBNER, W. : Klin. Wschr. 20, 137 - 141 (1941)
Klin. Wschr. 21, 520 - 521 (1942)
20. JUNG, F. : Naturwissenschaften 30, 472 - 473 (1942)
Klin. Wschr. 22, 42 - 43 (1943)
Klin. Wschr. 459-468 (1947)
Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 204, 133 - 138 (1947)
Naturwissenschaften 5, 120 - 121 (1954)
Das Deutsche Gesundheitswesen 25, 773 (1954)
21. KAIT, F. : Schweiz. med. Wschr. 85, 127 - 128 (1955)
22. KOLLER, F. : Diskussion zu Willi siehe
23. KÜNZER, W. u. SCHÜTZ, E. : Zschr. f. Kinderheilk. 77, 101 -106
(1955)
: " " 78, 96 -103
(1956)
24. MARCHAND, F. : Virch.Arch.path.Anat. 77? 455 - 488 (1879)
Arch. exp. Path.u.Pharmakol. 22, 201 - 232(1887)
" " " " 23, 273 - 315 u.
347 - 392(1887)
25. MERLINI, D. : Folia endocrinol. 4, 107 (1951) zit. nach
Fertman, M.H. u. M. B. siehe 12
26. MEYER, Th.G., ANGUS, J. : Arch.Dis.Childhood 31, 212 -215(1956)
27. MOESCHLIN, S. : Folia haemat. 65, 345 (1941)
28. MOORE, T. u. SHARMAN, J.M.: Lancet 1, 819 (1955)
29. NITSCH, K. : Klin.Wschr. 35, 363 (1957)
30. RICHARDSON, A.P. : J.Pharmacol.u.Exper.Therap. 70,370 - 377
(1940)
31. RIESS, L. : Berl.klin.Wschr. 19, 786 -788 (1882)
Arch.exp.Path.u.Pharmakol. Supplbd.460 (1908)

32. RODECK, H. u. WESTHAUS, H.: Arch. Kinderheilk. 145, 77 (1952)
33. SCHILLING, V. : Virch.Arch.path.Anat. 265, 536 - 540 (1927)
34. SCHWALBE, E. u. SOLLEY, J.B. : Virch.Arch.path.Anat. 168,
399 - 431 (1902)
35. STRÖDER, J., KÜNZER, W. u. MÜLKE, G. : Klin.Wschr. in Druck
36. WEBSTER, St.H. : Blood 4, 479 - 492 (1949)
37. WILHELMI, H. : Arch.exp.Path.u.Pharmakol. 200, 305 - 323 (1942/43)
38. WILLI, H. : Ann.Paediat. 159, 282 (1942)
Helv.Paediat.Acta 11, 325 - 334 (1956)
Schweiz.med.Wschr. 86, 1453 (1956)

Lebenslauf
=====

Am 19. November 1929 wurde ich als Tochter des Hauptlehrers Karl Bensch und dessen Ehefrau Hedwig , geb. von Piechowsky , in Miedar, Kreis Beuthen, Oberschlesien, geboren. Mit sechs Jahren trat ich in die Volksschule zu Föhrendorf, mit 10 Jahren in die Oberschule in Guttentag, Oberschlesien ein. Mitte Januar 1945 musste ich aus Oberschlesien flüchten. Ab September 1946 besuchte ich die Mädchen-Oberrealschule in Passau, an der ich am 14. Juli 1949 das Abitur bestand. Im Wintersemester 1950/51 begann ich mit dem Medizinstudium an der Universität Würzburg, wo ich im April 1953 das Physikum ablegte. Im Wintersemester 1953/54 studierte ich an der Universität München und im Sommersemester 1954 an der Universität Freiburg/Breisgau. Im Wintersemester 1954/55 setzte ich mein Studium an der Universität Würzburg fort und bestand hier im Oktober 1956 das ärztliche Staatsexamen. Danach habe ich zwei Monate an der Neurologischen Universitätsklinik gearbeitet.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe. Ein mir früher zugeteiltes Thema habe ich ordnungsgemäß zurückgegeben.

Gregor Bensch

